SENSIBILITE IN VITRO A LA CHLOROQUINE DE PLASMODIUM FALCIPARUM A ABIDJAN

J.A. DJAMAN (1, 2), A. YAPI (3), M.K. DJE (1), J.N. DIARRA (2), F. GUEDE-GUINA (1)

RESUME

La large répartition de l'endémie palustre dans le monde et la progression inexorable de la chloroquino-résistance sont une réalité désormais bien vivante en Côte d'Ivoire. Dans les régions de faible immunité, la prévalence des souches résistantes s'accroît progressivement.
La sensibilité in vitro de quarante-sept (47) isolats de Plasmodium (P.) falciparum provenant de malades atteints de paludisme simple a été étudiée en culture in vitro dans un milieu complet (RPMI 1640) supplémenté d'Hepès, de bicarbonate de sodium et de sérum humain.
Cette étude a été réalisée en début de saison de pluie.
Les résultats ont donné un indice plasmodique général de 60 %, un indice d'infection de 98 % pour P. falciparum et 1,31 % pour P. malariae. La sensibilité in vitro à la chloroquine a été de 67 % contre 32 % de résistance.

Mots clés : sensibilité in vitro, P. falciparum, indice plasmodique, indice d'infection.

SUMMARY

In vitro drug sensitivity of Plasmodium falciparum isolates in Abidjan
The wide geographic's distribution of malaria in the world and the important progression of chloroquine resistance are a reality in Côte d'Ivoire. In regions where the population is weakly immune, P. falciparum resistant isolates are on the increase.
The in vitro drug sensitivity for forty seven (47) isolates of P. falciparum have been studied in the complete RPMI 1640 medium containing Hepes, NaHCO3 and human serum.
This study in the beginning of rain season gave 67 % in vitro sensitivity against 32 % resistance to Chloroquine. The general plasmodic rating and P. falciparum rating infection during this period are respectivelly 60 % and 98 %, P. falciparum steals always in majority.

Key words : in vitro sensitivity, P. falciparum, plasmodic rating and infection rating.

INTRODUCTION

Le paludisme est une pathologie à évolution rapide transmise par un protozoaire du genre Plasmodium. On observe ces dernières années des manifestations cliniques moins caractéristiques des formes classiques décrites dans les traités de parasitologie. Malgré ce fait trois formes de la maladie sont toujours rencontrées : l'accès palustre simple, le paludisme évolutif et l'accès palustre grave, dû à Plasmodium falciparum (4).

Le paludisme simple doit être combattu avec la même rapidité que toutes les autres formes de la maladie par la prescription d'un antipaludique efficace et puissant ayant une bonne tolérance et induisant peu ou pas de résistance (13). Aussi, faut-il que cet antipaludique soit accessible à la majorité de la population. S'appuyant sur les recommandations de l'O.M.S., le Programme National de Lutte contre le Paludisme (P.N.L.P.) en Côte d'Ivoire préconise comme antipaludique de première intention la chloroquine ou l'amodiaquine dans le cas du paludisme simple.

La mauvaise utilisation de ces produits pourtant moins

(1) Laboratoire de Pharmacodynamie-biochimique, UFR Biosciences, Université de Cocody
(2) Laboratoire de Microbiologie, Institut National de Santé Publique d'Adjamé (I.N.S.P.)
(3) Laboratoire de Zoologie de l'UFR Biosciences, Université de Cocody

onéreux est probablement un des facteurs de développement de la résistance de P. falciparum et une augmentation certaine des complications en matière de traitement (5, 8).
Dans le but de surveiller le comportement des isolats de P. falciparum, nous avons mené pendant trois mois de mars à mai une surveillance passive de la sensibilité in vitro de P. falciparum à la chloroquine.

MATERIEL ET METHODES

Site de l'étude

Le laboratoire de microbiologie de l'I.N.S.P. a servi de cadre à cette étude. Les malades nous ont été adressés pour un diagnostic biologique du paludisme par le service des collectivités qui assure des consultations de médecine générale. Ils provenaient pour la plupart des quartiers périphériques de la commune d'Adjamé (Abidjan).

Diagnostic biologique

Chaque patient a fait l'objet d'une prise de sang au bout du doigt pour un diagnostic de certitude de la présence de Plasmodium : la goutte épaisse (G.E.) pour mettre en évidence l'hématozoaire et le frottis sanguin (F.S.) pour préciser l'espèce plasmodiale (14, 15). Après l'examen biologique, les malades sont renvoyés au clinicien pour un traitement. Néanmoins les malades répondant aux critères d'inclusion des tests in vitro ont bénéficié d'une explication éclairée et ont été retenus pendant quelques minutes après consentement pour une prise de sang veineux nécessaire à la culture des parasites.

Critères d'inclusion du test in vitro

* Accès palustre simple
* Infection mono-spécifique à Plasmodium falciparum
* Densité parasitaire (D.P.) supérieure ou égale à 4000 globules rouges parasités par microlitre de sang.

Culture in vitro

Le sang prélevé est lavé deux à trois fois avec du RPMI 1640 de lavage (RPMI contenant 25mM d'Hepès, 25mM de bicarbonate de sodium) pour éliminer le sérum et la couche leuco-plaquettaire. Le culot globulaire obtenu est dilué si nécessaire et les isolats sont maintenus en culture dans un milieu complet, le RPS (RPMI de lavage contenant 10 % de sérum humain) (16).
C'est la variante non isotopique du semi-microtest de LE BRAS que nous avons utilisé (11). Il mesure la capacité d'inhiber la transformation de jeunes trophozoïtes en schizontes à des doses croissantes d'un antipaludique (la chloroquine dans notre étude).
L'activité de la chloroquine après lecture des lames a été appréciée en fin de test par la détermination de la concentration qui entraîne 50 % d'inhibition (Ci50) (16).

RESULTATS

Le paludisme à l'I.N.S.P.

Sur 126 personnes suspectées d'avoir le paludisme qui nous ont été adressées par le service des collectivités, 76 ont eu une G.E. et F.S. positifs avec des densités parasitaires variant de 800 à 50000 trophozoïtes par microlitre de sang. Un (1) cas de Plasmodium malariae a été observé, le reste était P. falciparum.
L'indice plasmodique générale (I.P.)
• I.P. = 76/126 x 100 = 60,31 %
L'Indice d'infection par espèce (I.I.)
• I.I. à P. falciparum = 75/76 x 100 = 98,68 %
• I.I. à P. malariae = I/76 x 100 = 1,31 %

Sensibilité in vitro à la chloroquine

Quarante-sept (47) isolats de P. falciparum sur soixante-quinze ont été cultivés soit 61,84 %. Mais seuls trente-quatre (34) ont donné une bonne maturation et ont été interprétables (72,34 %). La Ci50 à la chloroquine pour chacun de ces isolats a été déterminée et apparaît dans le tableau I.

Tableau I : Sensibilité des isolats de P. falciparum à la Chloroquine

N° id. isolats	Is 09i	Is 09y	Is 60i	Is 49i	Is 53i	Is 008i	Is 53y	Is 51i	Is 50 i
Ci 50 CQ en nM	25	29	34	34	50	50	54	64	65
N° id. isolats	Is 002i	Is 003i	Is 061i	Is 030i	Is 002y	Is 006y	Is 017i	Is 019i	Is 006a
Ci 50 CQ en nM	65	65	69	70	70	74	75	78	78
N° id. isolats	Is 036i	Is 004i	Is 003y	Is 047i	Is 013y	Is 042i	Is 003a	Is 024i	Is 0071i
Ci 50 CQ en nM	80	84	90	92	99	120	140	150	160
N° id. isolats	Is 024y	Is 025y	Is 010i	Is 001i	Is 018i	Is 027y	Is 0141i		
Ci 50 CQ en nM	180	195	200	240	240	245	400		

n°id. : numéro d'identification Is = isolat CQ = Chloroquine Ci50 = concentration pour 50 % d'inhibition

Elles varient de 25 à 400 nM7, ce qui représente une moyenne de 64 nM pour les isolats chloroquino-sensibles et de 205 nM pour les isolats chloroquino-résistants. La prévalence des isolats résistants est de 32,5 % contre 67,5 % pour les isolats chloroquino-sensibles. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau II.

Tableau II : Prévalence de la chimiosensibilité des isolats de P. falciparum

I.N.S.P. (C.I.) Laboratoire de Microbiologie	Semi Microtest			Sensibilité à la chloroquine (Isolats)	
	Total	Réussite	Echec	Sensible	Résistant
	47	34	13	23 (67,5%)	11 (32,5%)

DISCUSSION

Cette étude n'a pas eu pour cible les enfants de moins d'un an ce qui ne permet pas d'évaluer la dynamique de la transmission. Elle a été conduite chez des adultes venus en consultation de médecine. Cependant la prévalence plasmodique élevée (60 %) rencontrée traduit une forte pression anophélienne au cours de cette période d'étude. En 1990, KONE et al. (9) ont estimé la prévalence plasmodique à 19 % dans la ville d'Abidjan. D'une manière générale, la prévalence plasmodique varie dans l'espace et dans le temps surtout quand les études sont réalisées de manière parcellaire (1, 10). Ce taux de 60 % traduit la prévalence du paludisme dans la fièvre de l'adulte reçu en consultation de médecine générale de mars à mai à l'I.N.S.P.

L'indice d'infection qui est de 98 % pour P. falciparum montre que cette espèce demeure majoritaire, c'est elle qui pose d'énormes difficultés en matière de traitement (2, 13). La présence de P. malariae même à ce faible taux montre qu'elle est bien présente en tant qu'espèce. Aussi doit-elle être l'objet de notre préoccupation surtout qu'elle est impliquée dans les atteintes rénales chroniques irréversibles. Des études épidémiologiques ultérieures sur un échantillon beaucoup plus représentatif devraient pouvoir nous situer sur la prévalence de cette espèce dans la région d'Abidjan en particulier et en Côte d'Ivoire en général.

A l'analyse des résultats de la sensibilité in vitro, il ressort que le taux de 32 % de résistance et les différentes valeurs de Ci50 nous donnent une idée des isolats de P. falcilarum chloroquino-résistants en circulation. Ce taux rapporté est néanmoins en dessous de celui déterminé par Le CORE en 1989 (12) dans le même centre : il était de 61 % et son étude avait été effectuée sur 13 isolats.

Par ailleurs cette résistance ne doit pas encore alarmer, elle rend simplement compte de la qualité des isolats en circulation. Elle n'a de valeur réelle que si elle est accompagnée d'une résistance in vivo qui met à nu un problème thérapeutique (6). Cette étude jette les bases d'une surveillance de la sensibilité in vitro/in vivo (7) qui sera couplée à l'étude moléculaire (3) des isolats de P. falciparum.

BIBLIOGRAPHIE

1 - ADJETEY A.C.
Contribution à l'étude in vivo de la sensibilité de P. falciparum à la chloroquine à la dose de 25 mg/kg dans la commune d'Adzopé en C.I.
Mémoire de Biol. Méd. 1995 : 1-157.
2 - AMBROISE-THOMAS P.
Physiopathologie du paludisme, réceptivité, résistance innée.
Paludisme, Ellipses/Aupelf, Ed. Marketing/Ellipses, 1991 : 60-65.
3 - BASCO, L.K. and RINGWALD P.
Molecular epidemiology of malaria in Yaoundé, Cameroon I Analysis of point mutations in the dihydrofolate reductase-thymidilate synthase gene of P. falciparum.
Am. J. Trop. Med. Hyg. 1998, 58, (3), 369-373.
4 - BOURRÉE P.
Le paludisme, aide-mémoire de parasitologie et de pathologie médicale.
Ed. Flammarion, Méd. Sc. 2 éd., 1994 : 113-124.
5. - DANIS M.
Médicaments antipaludiques.
Paludisme Ellipses/Aupelf, Ed. Marketing/Ellipses, 1991 : 131-145.
6 - GUIGUEMDE T.R.
Evaluation de la chimiorésistance.
Paludisme Ellipses/Aupelf, Marketing/Ellipses, 1991 : 193-195.
7 - GUIGUEMDE T.R., GBARY R.A., COULIBALY S.O., OUEDRAOGO J.B.
Comment réaliser et interpréter les résultats d'une épreuve de chimiorésistance de P. falciparum chez les sujets malades en zone tropicales.
C.S., 1996, 6 : 187-191.
8 - HENRY M.C., KONE M., GUILLET P., MOUCHET J.
Chloroquine resistance and malaria control in Ivory Coast.
Santé 1998, Jul-Aug, 8, (4) : 287-291.
9. KONE M., PENALI L.K., HOUDIER M., ASSOUMOU A., COULIBALY A.
Evaluation in vivo de la sensibilité de P. falciparum à la Chloroquine à

Abidjan.
Bull. Soc. Path, 1990, 83 : 187-192.
10 - KOUASSI K.
Contribution à l'évaluation de la sensibilité de P. falciparum à la chloroquine à la dose de 25 mg/kg et 30mg/kg dans l'agglomération d'Abidjan (C.I.).
Mémoire de thèse de Doct. Ph. Univ. C.I. 1992 : 1-165.
11 - LE BRAS J. et DELORON P.
In vitro study of drug sensitivity of P. falciparum an evaluation of a new semi microtest.
Am. J Trop. Med. Hyg. 1983, 32 : 447-451.
12 - LE CORRE J.
Etude de la sensibilité in vitro de P. falciparum aux antipaludiques à l'I.N.S.P.
Conclusion du Comité National sur le paludisme, 1989 (24)/M. S.P./C.C.C.D., 1 : 1-9.
13 - MOUCHET J., BAUDON D., CARNEVALE P.
Moyen de lutte et stratégie.
Paludisme, Ellipses/Aupelf Ed. Marketing/Ellipses, 1991 : 198-210.
14 - SCHNEIDER P.
Le paludisme.
Les feuillets du praticien, 1960 : 160.
15 - WERY M.
Diagnostic biologique du paludisme.
Paludisme, Ellipses/Aupelf, Ed. Marketing/Ellipses, 1991 : 111-127.
16 - WHO
Mode d'emploi du nécessaire d'épreuve pour l'évaluation de la réponse de P. falciparum à la chloroquine in vitro.
Tiré à part des tests de Rieckmann (1971), Bull. Mond. Santé 1984, 45 : 157-167.

Médecine d'Afrique Noire

Le Pharmacien d'Afrique

Odonto-Stomatologie Tropicale

Médecine du Maghreb

sont sur

www.santetropicale.com